Aus dem Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene
des Bundesgesundheitsamtes
(Leiter: Erster Direktor und Prof. Dr. med. F. Höffken)

Untersuchungen über bakterielle Indikatoren und deren Verhalten in Tafelwässern

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Hanno Soenke
aus Braunau/Inn

1974

Aus dem Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene
des Bundesgesundheitsamtes
(Leiter: Erster Direktor und Prof. Dr. med. F. Höffken)

Untersuchungen über bakterielle Indikatoren und deren Verhalten in Tafelwässern

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Hanno Soenke
aus Braunau/Inn

Referent : Prof. Dr. med. habil. W. M a a s s e n

Korreferenten: Prof. Dr. med. V. L e n k

Prof. Dr. med. K. G r o ß g e b a u e r

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

UNIV. LEIDEN BIBL.

Promoviert am: 26. November 1974

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546512_0034

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	4
2.	Allgemeiner Teil	6
3.	Spezieller Teil	12
	3.1 Material und Methodik	12
	3.2 Versuche und Ergebnisse	21
	3.2.1 Koloniezahlbestimmungen	21
	3.2.2 Andere Befunde	27
	3.2.3 Beimpfungsversuche	29
4.	Diskussion	39
5.	Zusammenfassung	44
6.	Schrifttum	45

1. EINLEITUNG

Die Mineralwasserindustrie ist sowohl in Deutschland als auch im Ausland zu einem starken Wirtschaftszweig geworden, der ständig in der Expansion begriffen ist. Schon im Jahre 1899 wurden aus 36 Tafelwasserquellen 78 Millionen Gefäße abgefüllt (17). Heute verkauft allein die bedeutendste Mineralwassergruppe PERRIER in Frankreich 600 Millionen Flaschen im Jahr (8). Die ortsabhängige, oft ungerechtfertigte Unzufriedenheit mit der Qualität des durch die öffentliche Trinkwasserversorgung gelieferten Wassers, eine durch spektakuläre Vorfälle der Umweltverschmutzung (Öl, Waschmittel, Chemikalien) geschürte Angst vor Umweltgefahren, der Wunsch, sich gesund zu ernähren (Neuformwelle) sowie die geringe Kalorienzahl (Schlankheitswelle) mag das Interesse der Bevölkerung an Tafelwässern und deren steigenden Absatz erklären. Aber auch Mineralwässer sind nicht immer hygienisch einwandfrei. So sind z.B. in der älteren Literatur drei Typhusepidemien beschrieben, die auf den Genuß von infizierten Mineralwässern zurückzuführen sind (17, 27, 29). Auch die von den ersten Untersuchungen bei Mineralwässern ermittelten Koloniezahlen waren durchweg höher als für Trinkwasser üblich (12, 13, 25, 34, 26, 36). Tafelwässer und Mineralwässer müssen nach den geltenden gesetzlichen Bestimmungen gesundheitlich unbedenklich sein. Nach dem Lebensmittelgesetz in der Fassung vom 17.1.1936 (RGBL I S. 17) und vom 21.12.1958 (BGBL I S. 950) sind Mineralwässer zu den Lebensmitteln zu rechnen. Gemäß § 3 dieses Gesetzes ist es verboten, 'Lebensmittel für andere derart zu gewinnen, herzustellen, zuzubereiten, zu verpacken, aufzubewahren, zu befördern oder sonst zu behandeln, daß ihr Genuß die menschliche Gesundheit zu schädigen geeignet ist.'

§ 8 der Verordnung über Tafelwasser vom 12.1.1934 (RGBL I S. 1183) in

der Fassung der Verordnung vom 11.2.1938 (RGBL I S. 199) verbietet, 'Zur Gewinnung oder Herstellung von Tafelwässern oder Sole anderes als gesundheitlich unbedenkliches Wasser zu verwenden.' Tafelwässer müssen außerdem hygienisch bakteriologisch einwandfrei sein.

Auch innerhalb der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft spielt das Mineralwasser eine Rolle. Die Problematik ergibt sich hier schon aus der Interpretation des Begriffs Mineralwasser, denn ein Teil der Mitgliedstaaten, die mit nicht CO_2-haltigen, d.h. mit sogenannten stillen Wässern auf den Markt gekommen sind, steht auf dem Standpunkt, daß jedes Mineralwasser, das den gesetzlichen Vorschriften im Land der Abfüllung entspricht, auch in anderen Ländern zum Verkauf zugelassen ist.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, festzustellen, ob Tafelwässer verschiedenster Provenienz in bakteriologischer Beziehung Trinkwassereigenschaften besitzen, d.h. keine Krankheitserreger enthalten sind, 1oo ml frei von Escherichia coli sind und ob die Koloniezahlen 1oo Keime im ml Wasser nicht übersteigt.

An 1134 Tafel- und Mineralwässern[+] verschiedener Herkunft und unterschiedlicher Zusammensetzung wurden bakteriologische Untersuchungen nach den für Trinkwasser festgelegten Vorschriften vorgenommen (vgl. Abschnitt K 5 und K 6 der deutschen Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung, Ausgabe Oktober 1972).

+ Ich danke dem Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes, das mir die 1134 Untersuchungsprotokolle zur Auswertung überlassen hat.

2. ALLGEMEINER TEIL

Das Hauptgewicht dieser Arbeit wurde auf die Bestimmung der Koloniezahl und den Nachweis von bakteriellen Faekalindikatoren in Tafelwässern gelegt. Der Nachweis von E. coli wird als Beweis für eine faekale Verunreinigung angesehen und weist auf die Möglichkeit einer Verunreinigung mit pathogenen Darmkeimen hin (6). Coliforme Keime deuten auf eine Verunreinigung mit Oberflächenwasser hin (23). Enterokokken werden ebenfalls als Indikator einer faekalen Verunreinigung angesehen (16), wenn sie auch in geringerer Menge im Stuhl enthalten sind als die Colibakterien. Eine Erhöhung der Koloniezahl kann unter Umständen auch als Verunreinigung evtl. sogar mit Abfallstoffen im weitesten Sinne angesehen werden (19, 24, 51). Der des öfteren vertretenen Meinung, daß den saprophytischen Wasserkeimen keine hygienische Bedeutung zukomme (12, 36, 5o), wird von anderen Autoren entgegengehalten, daß ein keimreiches Wasser zum mindesten kein appetitliches Wasser sein kann (47, 48).

Die Verunreinigung eines Mineralwassers mit Bakterien ist im Wesentlichen auf drei Wegen möglich, nämlich

1. durch eine Verunreinigung der Mineralwasser führenden Quelle bzw. des als Mineralwasser dienenden Grundwassers oder dessen Förderbrunnen,
2. durch einen Bakterieneintrag aus der Luft in den Fabrikationsräumen (16),
3. durch Einfüllen eines zunächst bakteriologisch einwandfrei gewesenen Wassers in schlecht gesäuberte Flaschen oder andere Aufnahmebehälter bzw. durch deren Verschlüsse (5, 31, 52),
4. durch die Vermehrung weniger, sog. autochthoner 'Wasserkeime' während der Lagerung in der Flasche.

Wie bereits eingangs erwähnt, unterscheidet sich die Auffassung anderer EWG-Länder über ein Mineralwasser zum Teil erheblich von der der Deutschen. Die französische Auffassung z.B. geht dahin, daß ein Mineralwasser ein Quellwasser sein muß, das möglichst arm an mineralischen Stoffen ist und von der Académie Médicine als gesundheitsfördernd zugelassen sein muß. In Deutschland dagegen muß ein Mineralwasser mindestens 1ooo mg/l mineralische Substanz enthalten (15).

Die Auffassung der nicht romanischen Mitgliedstaaten geht von der Voraussetzung aus, daß ein Mineralwasser neben dem festgelegten Mindestgehalt von 1ooo mg/l mineralischen Stoffen der Tafelwasserverordnung von 1934 entsprechen muß. In den für die Beurteilung eines Mineralwassers geltenden rechtlichen Grundlagen sind Grenzwerte für die bakteriologische Beschaffenheit des Wassers nicht angegeben. Auch wenn man auf dem Standpunkt steht, daß es mindestens Trinkwasserqualität im bakteriologischen Sinn haben muß, gibt es auch für letzteres weder im § 3 LMG noch im § 11 Bundesseuchengesetz festgelegte Grenzwerte für den Bakteriengehalt. In der auf der Ermächtigung des § 11 des Bundesseuchengesetzes zu erstellenden Rechtsverordnung (sog. Trinkwasserverordnung) ist vorgesehen, daß Trinkwasser frei von Krankheitserregern sein muß. Das gilt als gegeben, wenn

1. Trinkwasser in 1oo ml keine E. coli enthält
2. Trinkwasser in verschlossenen Behältnissen, die zur Abgabe an den Verbraucher bestimmt sind, außerdem in 1oo ml keine coliformen Keime enthält und die Koloniezahl 1ooo/ml nicht überschreitet.

In der DIN 2000 (11), die keine Rechtsvorschrift darstellt, aber ebenso

wie die anderen Normen als allgemein anerkannte Regel der Technik anzusehen ist, heißt es in der Ausgabe von 1973 unter 3.2.1 'Die Koloniezahl des Trinkwassers soll höchstens 1oo je ml betragen.'

Es ist nur logisch, wenn die Anforderung an die bakteriologische Beschaffenheit eines Mineralwassers strenger als für Trinkwasser sein muß, bedenkt man doch, daß auch für Schwimmbadewässer in gekachelten Frei- und Hallenbädern bakteriologisch gesehen bereits Trinkwasserqualität, d.h. eine Koloniezahl von unter 1oo Keimen im ml Wasser verlangt wird (4). SEELIGER und WERNER (49) weisen darauf hin, daß, ebenso wie in anderen Ländern, auch in der Bundesrepublik der Mineralwasserverbrauch von Jahr zu Jahr steigt und darum eine bakteriologisch einwandfreie Qualität eine unbedingte Voraussetzung ist,vgl. S. 4.. SEELIGER und WERNER setzen bei ihren Untersuchungen von Mineralwässern einen Grenzwert von 5o Kolonien im ml Wasser bei einer Bebrütungstemperatur von 22° und forderten gleichfalls das Fehlen von bakteriellen Faekalindikatoren. Die von ihnen untersuchten Tafelwässer waren zu 72,5 % und die Mineralwässer zu 57,8 % bakteriologisch einwandfrei, so daß der Schluß gezogen wird, daß die Mehrzahl der in Deutschland hergestellten und verkauften Wässer dieser Art bakteriologisch einwandfrei sind. In Frankreich wurden von BUTTIAUX (6) in drei Jahren 12.ooo Mineralwasserproben untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß die Koloniezahl bei 8o % der bei der Abfüllung ausgeführten Untersuchungen niedriger als 1 im ml war und bei 13 % der Proben unter 1o im ml lag. Von 44 weiteren Mineralwässern zeigten 38 eine Koloniezahl von 0 im ml, 5 eine solche zwischen 5 - 2o im ml und nur eine Probe eine Koloniezahl über 1ooo im ml bei der Abfüllung. Es wurde allerdings, entgegen der in Deutschland üblichen Bebrütungstemperatur von 2o ± 2° C eine solche von 3o° gewählt. Wurden die Wässer aber nicht bei 3o° sondern

bei 21° bebrütet, hatten 13 Proben eine Koloniezahl unter 1o/ml, 3 eine solche unter 1oo/ml, während 28 eine solche zwischen 1ooo und 1oo ooo im ml Wasser hatten. Diese bei einer Bruttemperatur von 21° ermittelten Mikroflora setzte sich aus Pseudomonas-Xanthomonas-, Achromobacter- und Flavobakterienarten zusammen. BUTTIAUX und BOUDIER (7) beobachteten, daß Mineralwasserproben, die bei Gewinnung höchstens eine Koloniezahl von 1/ml hatten, nach 1 - 6 Monaten Lagerung bei Zimmertemperatur eine Koloniezahl von 1oo ooo - 2oo ooo/ml erreichten. Sie weisen darauf hin, daß besonders Pseudomonaden an dieser Keimvermehrung lebhaft beteiligt sind und empfehlen daher eine Sterilisation des Mineralwassers. PRÉVOT und THOUVENOT (45) schildern, wie durch den Genuß eines Pseudomonas fluorescenz haltigen Mineralwassers ein Kind an schwersten Magen-Darm-Symptomen erkrankte und einer Antibiotikabehandlung unterzogen werden mußte.

Einen erheblichen Einfluß auf die Erhaltung der bei der Abfüllung bestehenden bakteriologisch einwandfreien Wasserqualität übt vermutlich die Zugabe von Kohlensäure aus. Mehrere Autoren sind der Ansicht, daß in einem kohlensauren Wasser die Keime zum großen Teil absterben (1, 18, 2o, 33, 46). Dagegen wird jedoch von Anderen die Meinung vertreten, daß auch eine Keimzunahme erfolgen kann (9, 14, 27, 3o). Wie umstritten der Einfluß der Kohlensäure auf das Bakterienwachstum ist, läßt sich am besten an Hand der Salmonellen aufzeigen. Einige Autoren haben in Versuchen bewiesen, daß die S. typhi in kohlensaurem Wasser in 1 - 12 Tagen zugrundegeht (2o, 32, 46, 5o), aber auch in anderen Trinkwässern ist ihre Lebensdauer nur gering, während andere Salmonellaspecies bis zu 2 - 3 Monaten in Trinkwasser überleben können, in kohlensäurehaltigem Wasser aber früher absterben (39). Trotzdem sind Typhusepidemien über infiziertes Mineralwasser möglich (17). Die Versuche von KLIEWE und KINDLÄUSER (3o) haben ergeben, 'daß sowohl

apathogene Wasserbakterien der Gattung Vibrio als auch pathogene Keime der Salmonellagruppe von der Kohlensäure im Wasser schneller zum Absterben gebracht werden'. G.MÜLLER (39) hat festgestellt, daß in stark kohlensäurehaltigen Wässern (1ooo mg/l CO_2) die sonst sehr widerstandsfähigen Ps.fluorescenz schon nach 12 Tagen zugrunde gegangen sind, während die Colibakterien, wenn auch mit abnehmenden Keimzahlen, so doch immerhin über die ganze Versuchsdauer von 6o Tagen am Leben blieben. Sie äußert die Vermutung, daß die beobachtete Widerstandsfähigkeit von Colibakterien und Salmonellen gegen große Mengen freier Kohlensäure darauf zurückzuführen ist, daß diese Bakterien auf Grund ihres Stoffwechsels z.B. aus Zucker CO_2 zu bilden vermögen und sich daher an derartige PH-Verschiebungen ins Saure besser anpassen können.

Eine andere Frage geht dahin, wie weit die zur Aufbewahrung der meisten Wässer verwendeten Kunststofflaschen die bakteriologische Qualität des Inhaltes ungünstig beeinflussen. Dies ist schwer zu beurteilen. Zu beachten sind aber die Laboratoriumsversuche von BARTH (2) und GRÜN und GOTT (21), die festgestellt haben, daß unter der Voraussetzung einer längeren Berührungszeit der Medien: Mikroorganismus / Wasser / Kunststoffläche mit durch den Kunststoff ausgelösten Keimvermehrungen gerechnet werden muß . Auch GRÜN (22) und MOEBIUS (35) berichten über die Möglichkeit, daß sich Pseudomonaden an Kunststofflächen vermehren oder diese sogar zersetzen können. Da auch Mineralwässer pseudomonadenhaltig sein können und über Monate gelagert werden, muß auch das Problem des Kunststoffangriffs in Betracht gezogen werden.

Außerdem sei noch Folgendes bemerkt: Nach der DIN 2000, Leitsätze für die Zentrale Trinkwasserversorgung, Abschnitt 3.3 soll ein Trinkwasser

seiner Herkunft nach appetitlich sein. Der Begriff 'appetitlich' könnte mit dem Begriff 'nicht ekelerregend' im Sinne des Lebensmittelgesetzes gleichgesetzt werden. Der § 4 LMG, der den Schutz des Verbrauchers sichern soll, verbietet das 'Nachmachen, Verfälschen, und die irreführende Bezeichnung' eines Lebensmittels. Nach der ständigen Rechtsprechung (28) gelten als 'verdorben' auch solche Lebensmittel, die beim Durchschnittsverbraucher Ekel erregen. 'Diese Beurteilung wird nicht dadurch ausgeschlossen, daß der Verbraucher die ekelerrende Eigenschaft nicht schmeckt, riecht oder wahrnimmt'. 'Verdorben ist ein Lebensmittel schon dann, wenn es bei Kenntnis seiner Herkunft beim Verbraucher Ekel erregen würde'. Ekelerregung und Appetitlichkeit sind also Begriffe, die nicht nur den zur Zeit des Verbrauchers herrschenden Zustand eines Wassers betreffen, sondern auch für die Entstehungsgeschichte eines Lebensmittels gelten. Weite Teile der Bevölkerung greifen, gelenkt durch Reklame oder weil sie in Unkenntnis der Sachlage das eigentliche Trinkwasser für nicht appetitlich genug halten, zur Deckung ihres Flüssigkeitsbedarfs, aber auch zur Nahrungsmittelbereitung (besonders für Säuglinge) auf Mineral- und Tafelwasser zurück. Letztere sollten daher mindestens einen hygienisch-bakteriologischen Zustand haben, der dem eines einwandfreien Trinkwassers entspricht.

3. SPEZIELLER TEIL

3.1 Material und Methodik

In dieser Untersuchungsreihe sind insgesamt 1134 Mineral- oder Tafelwasserproben von 47 verschiedenen Herstellern bakteriologisch untersucht und ausgewertet worden. Bei 574 Flaschen handelte es sich um sogenannte stille Wässer, d.h. sie enthielten keine Kohlensäure, während 55o Proben kohlensäurehaltig waren.

Zur Durchführung bakteriologischer Untersuchungen an Mineralwässern wurden folgende Bestimmungen durchgeführt:

1. Bestimmung der Koloniezahl
2. Nachweis von E. coli und coliformen Keimen
3. Nachweis von faekalen Streptokokken
4. Nachweis von sulfitreduzierenden, sporenbildenden Anaerobiern
5. Nachweis von Krankheitserregern z.B. Salmonellen

Auf folgenden Nährböden wurden Koloniezahlbestimmungen vorgenommen.

1. Nähr-Gelatine (Herstellung s. S. 2o)
   Bebrütungstemperatur $2o^{o} + 2^{o}$ C
   Bebrütungszeit 44 ± 4 h

2. Nähr-Agar (Herstellung s. S. 2o)
   Bebrütungstemperatur $2o^{o} \pm 2^{o}$ C
   Bebrütungszeit 44 ± 4 h

3. Nähr-Agar (Herstellung s. S. 2o)

Bebrütungstemperatur 37 ± 1° C

Bebrütungszeit 2o ± 4 h

4. Kieselsäure-Phosphatbouillon-Nährböden (Herstellung s. S. 2o)

Bebrütungstemperatur 2o° ± 2° C

Bebrütungszeit 44 ± 4 h

5. Kieselsäure-Phosphatbouillon-Nährböden (Herstellung s. S. 2o)

Bebrütungstemperatur 37° ± 1° C

Bebrütungszeit 2o ± 4 h

Als Koloniezahl wird entsprechend den Deutschen Einheitsverfahren 'die Zahl der mit 6 - 8-facher Lupenvergrößerung sichtbaren Kolonien bezeichnet, die sich aus den in 1 ml des zu untersuchenden Wassers befindlichen Bakterien in Plattengußkulturen mit nährstoffreichen, peptonhaltigen Nährböden (1 % Fleischextrakt, 1 % Pepton) bei einer Bebrütungstemperatur von 2o ± 2° C nach 44 ± 4 h Bebrütungszeit oder bei 37 ± 1° C und einer Zeitspanne von 2o ± 4 h bilden. Zu bedenken ist, daß die Bebrütungstemperatur von 22° C für viele im Boden und Wasser lebende Bakterien adaequat ist, während bei einer Temperatur von 37° C diejenigen Bakterien zur Entwicklung gebracht werden, die sich auf die Körpertemperatur von Warmblütern eingestellt haben.

Die Bakterienarten E. coli, coliforme Keime, Pseudomonas aeruginosa, faekale Streptokokken, Salmonellen sowie Clostridien wurden nach den folgenden Untersuchungsverfahren nachgewiesen:

E. coli und coliforme Keime

E. coli und coliforme Keime haben gemeinsam die Fähigkeit, bei einer Temperatur von $37^{o} \pm 1^{o}$ C, Laktose innerhalb von 2o ± 4 h unter Gas- und Säurebildung abzubauen. Die Untersuchung auf E. coli erfolgte in 1oo ml Wasser durch Membranfiltration und Bebrütung des Membranfilters auf Laktose-Fuchsin-Sulfitagar (Endoagar) (Herstellung s. S. 2o), bei einer Bebrütungszeit von 2o ± 4 h.

Eine endgültige Diagnose ist durch das Stoffwechselmerkmal 'Gas- und Säurebildung' aus Laktose, bzw. Bildung von fuchsin-roten Kolonien auf dem bebrüteten Membranfilter alleine nicht möglich, so daß zusätzlich nach Sub- bzw. Reinkultur auf Endoagar mindestens folgende Stoffwechselmerkmale erfüllt sein müssen:

E. coli und coliforme Keime geben eine negative Cytochromoxydasereaktion.

E. coli bildet Indol aus einer tryptophanhaltigen Bouillon, spaltet Dextrose, Lactose oder Mannit bei 44^{o} C ± $o,5^{o}$ unter Gas- und Säurebildung innerhalb 2o ± 4 h und kann Citrat nicht als einzige Kohlenstoffquelle verwenden. Coliforme Bakterien spalten Lactose bei $37^{o} \pm 1,o^{o}$ C unter Gas- und Säurebildung, weichen aber in der Indolbildung oder im Zuckerabbau bei Temperaturen von 44^{o} C oder im Citratabbau von den für E. coli genannten Merkmalen ab.

Nachweis von faekalen Streptokokken

Die Untersuchung auf faekale Streptokokken erfolgte in 1oo ml Wasser. Es

wurde die von G. MÜLLER beschriebene Methode benutzt (4o). Es wurde die Methode der Membranfiltration mit Filtern einer Porengröße für 'größere Viren und Phagen' gewählt. Die Bebrütung des Filters wurde für 2o ± 2 h und 4o ± 4 h auf Tetrazoliumchlorid-Natriumazidagar (Herstellung s. S. 19) bei 37° ± 1° C durchgeführt.

Dabei ist eine optische Diagnose der gewachsenen braun-roten Kolonien als faekale Streptokokken nicht möglich. Zur Differenzierung wurden daher mindestens folgende biochemischen Eigenschaften geprüft:

a) Wachstum auf 6,5 %igem Kochsalz-Blutagar
b) Wachstum auf einem Alkaliblutagar mit pH 9,6
c) Schwärzung einer Aescubinbouillon

Nachweis von sulfitreduzierenden sporenbildenden Anaerobiern

Es wurde die von PAPPAVASSILOU und WEGENER beschriebene Methode benutzt (44). Die bei der Untersuchung verwendete Wassermenge betrug 1oo ml. Diese Menge wurde 1o Min. im Wasserbad auf 75° C erwärmt, um etwa vorhandene vegetative Formen abzutöten. Nach dem Abkühlen erfolgte Membranfiltration (Porengröße der Membranfilter für 'größere Viren und Phagen'), danach wurde das Filter auf Nähragar (Herstellung s. S. 2o) aufgelegt. Das auf den Nähragar aufgelegte Filter läßt man 3o Min. bei 37° C im Brutschrank trocknen. Sodann werden 2o ml eines Glucose-Sulfit-Sulfat-Agars (Herstellung s. S. 19) vorsichtig über das Membranfilter geschichtet und die Platte im Kühlschrank zum Erstarren gebracht. Nach dem Erstarren wird zur Schaffung sicherer anaerober Verhältnisse noch einmal mit 15 ml gewöhnlichem Nähragar überschichtet (sog. Dreischichtenagar).

Sulfitreduzierende sporenbildende Anaerobier sind nach Bebrütung bei $37^{o} \pm 1^{o}$ C und einer Zeit von 2o ± 2 h als schwarze Kolonien sichtbar und zählbar.

Nachweis von Salmonellen

Die zur Untersuchung auf Salmonellen benötigte Wassermenge betrug 4oo ml. Die Wassermenge wurde membranfiltriert und das Filter in Kristallviolettbouillon (Herstellung s. S. 19) eingelegt. Die Bebrütung erfolgte bei einer Temperatur von $37^{o} \pm 1^{o}$ C in 2o ± 2 h. Dann wurde eine Aussaat auf je einer Platte Wismut-Sulfit-Agar (Herstellung s. S. 2o) und Phenolrotagar (Herstellung s. S. 2o) vorgenommen und diese wiederum 2o ± 2 h bei $37^{o} \pm 1^{o}$ C bebrütet. Parallel zur Plattenaussaat der Ausgangsbouillon, die das Membranfilter enthält, wurde noch einmal 1 ml in Kristallviolettbouillon überimpft und mit den Platten gemeinsam bei $37^{o} \pm 1^{o}$ C und 2o ± 2 h bebrütet. Am darauffolgenden Tage wird aus der Kristallviolettbouillon (2. Aussaat) Plattenaussaat (s.o.) und von der Wismut-Sulfit-Agar-Platte und der Phenolrotagar-Platte verdächtige Kolonien (Wismut-Sulfit-Agar = metallisch schwarz, Phenolrotagar = farblos) auf Leifson-Agar (Herstellung s. S. 2o) verimpft. Von dort oder von der Wismut-Sulfit-Agar-Platte und der Phenolrotagar-Platte wird direkt eine serologische Differenzierung nach dem Kauffmann-White-Schema und bei positivem Ausfall eine biochemische Bestätigung vorgenommen.

Nachweis von Pseudomonas aeruginosa

Diese Bakterien können gleichzeitig mit der Untersuchung auf Salmonellen erfaßt werden. Sie fallen nach Anreicherung des Wassers in Kristallviolett-

bouillon und der Aussaat auf Brillantgrün-Phenolrot-Agar an, besonders, wenn die Platten nach der Bebrütung bei 37° C weitere 2 - 3 Tage bei Zimmertemperatur beobachtet werden. Ps. aeruginosa wächst auf Phenolrot-Agar lila mit silbernem Schimmer. Die Isolierung erfolgt durch die Anlage von Einzelkolonien auf Nähragar bei einer Bebrütungszeit von 4o ± 4 h bei einer Temperatur von 37 ± 1° C. Die Bildung eines alkohol-löslichen grünen Farbstoffes auf Schrägagar und Wachstum bei 46 ± 1° C genügte in dieser Untersuchungsreihe zur Bestätigung.

Jeweils drei Mineralwasserproben der 47 verschiedenen Hersteller wurden mit Hilfe eines Atomabsorptionsphotospektrometers auf ihren Silbergehalt überprüft. Bei einem Wert von über 2o µg/l Ag, wurde von uns angenommen, daß die Proben zur besseren Konservierung gesilbert wurden, und daß es sich nicht mehr um einen natürlichen Silbergehalt handelt.

Methodik der Beimpfungsversuche

Neben diesen Untersuchungen an Handelsproben wurden gezielte Versuche über das Verhalten von bakteriellen Indikatoren in stillen sowie in CO_2-haltigem Wasser ausgeführt. Dabei wurde jeweils eine bestimmte Bakterienmenge von S. typhi-murium, Vibrio Metschnikov, E. coli, Enterobacter (als coliformer) Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescenz und Pseudomonas aeruginosa in Glasschlifflaschen, die vorher mit 5oo ml des stillen bzw. kohlensäurehaltigen Wassers gefüllt wurden, eingeimpft. Um auf den Nährböden nicht extrem hohe Koloniezahlen zu erreichen, wurden vorher Verdünnungsreihen von den oben angegebenen Bakterienstämmen hergestellt. 1 ml der beimpften Mineralwässer wurde nach vorherigem sorgfältigem Durchmischen auf die für die Stämme spezifischen Nährböden aufgebracht und bei der für die Bakterienart optimale Temperatur bebrütet,und zwar:

Bakterienart	Nährboden	Bebrütungstemp.	Bebrütungsdauer
E. coli	Endoagar	37°	2o ± 2 h
Coliforme Keime	Endoagar	37°	2o ± 2 h
Pseudomonas aeruguinosa	Brillantgrün Phenolrot-Agar	37°	2o ± 2 h
S. typhi-murium	Wismut-Sulfit-Agar	37°	2o ± 2 h
Aeromonas hydrophila	Endoagar	37°	2o ± 2 h
Vibrio Metschnikov	Nähragar	37°	2o ± 2 h
Pseudomonas fluorescenz	Nähragar	22°	44 ± 2 h

Derselbe Versuch wurde durchgeführt, nachdem sowohl das kohlensäurehaltige als auch das stille Wasser vor dem Beimpfen sterilisiert wurden. Der Bakteriengehalt wurde nach dem 1., 2., 3., 8., 9., 14., 21. und 28. Tag geprüft.

Ein bestimmtes stilles Mineralwasser enthielt im Vergleich zu anderen überdurchschnittlich viel $CaSO_4$, so daß überlegt werden mußte, ob außer der Kohlensäure auch $CaSO_4$ einen Einfluß auf das Bakterienwachstum haben könnte. Deshalb wurden in einem weiteren Versuch E. coli, Pseudomonas aeruguinosa und S. typhi-murium nach Aufstellen einer Verdünnungsreihe in 5oo ml eines $CaSO_4$-haltigen stillen Wassers in Glasschlifflaschen eingeimpft. Um einen Vergleich zu erhalten, wurde der Versuch außerdem mit reinem Leitungswasser und einem Zusatz von 13oo mg $CaSO_4$, der dem $CaSO_4$-Gehalt des betreffenden Mineralwassers entsprach, durchgeführt.

Tetrazoliumchlorid-Natriumazidagar

Glucose	4	g
Kaliumdiphosphat	8	g
Natriumazid	o,8	g
TTC	o,2	g

in 1ooo ml kaltem aqua dest. lösen mit etwa 5o° C warmem 2 %igen Fleischwasseragar vermischen, pH 7,2 ± o,1 einstellen, zu Platten gießen.

Glucose-Sulfit-Sulfat-Agar

Glucose	2o,o	g
Agar	15,o	g
Bouillon	1ooo	ml

Einstellung des pH auf 7,6 ± o,1 und abfüllen in Röhrchen zu 2o ml. Autoklavieren für 2o Min. bei 115° C. Vor Gebrauch werden diesem Nährmedium folgende Lösungen zugesetzt:

a) 2 ml einer 2o %igen, wässerigen sterilen Lösung von Natriumsulfit (rein, wasserfrei), Vorratshaltung höchstens bis zu 5 Tagen möglich
b) 5 Tropfen einer 8 %igen wässerigen, sterilen Lösung von Eisen II Sulfat (rein, kristallisiert).

Kristallviolett-Bouillon

1oo ml Nährbouillon, diese auf pH = 6,5 einstellen, zusetzen von o,5 ml einer o,1 %igen wässerigen Kristallviolettlösung. 3o Min. sterilisieren und nach dem Abkühlen Zugabe von 2 g Kaliumtetrathionat. Schütteln der Lösung und Abfüllen in Röhrchen.

Wismut-Sulfit-Agar

Fertignährboden von Difco

Brillantgrün-Phenolrot-Agar

1ooo ml 1,5 % Fleischwasseragar

15 g Lactose

1,3 ml einer o,5 %igen wässerigen Brillantgrünlösung

4o ml Phenolrotlösung

(1 g Phenolrot in 4o ml $^{n}/_{1o}$ NaOH + 46o ml A.d. lösen)

Fleischwasseragar verflüssigen und Lactose zugeben, dann Brillantgrün- und Phenolrotlösung zufügen. PH auf 7,o $\pm$ o,1 einstellen, steril in Platten gießen.

Leifson-Agar (SS-Nährboden)

9oo ml 2 %igen Fleischextraktagar

1o g Lactose in 25 ml A.d. lösen

25o ml Lösung I (1o g Nace, 2 g K_2HPO_4, 2 g Ferri-Ammonium-Citrat, 5o ml A.d.)

5o ml Lösung II (o,125 g Soda wasserfrei, 1 g Natriumdesoxycholat, pH 7,o, 5 ml A.d.)

1 g Natriumsulfit in 2o ml A.d.

1 ml wässerige 2 %ige Neutralrotlösung pH 7,o

Gelatine, Agar, Kiebo sowie Nähragar und Endoagar wurden nach dem 'Deutschen Einheitsverfahren' zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, Abschnitt K 5 bzw. K 6 der Ausgabe 1972 hergestellt.

3.2 Versuche und Ergebnisse

3.2.1 Koloniezahlbestimmungen

Tabelle Nr. 1

Die Tabelle Nr. 1 gibt Auskunft über die Koloniezahlwerte in stillen bzw. kohlensäurehaltigen Tafelwässern, die nach einer Bebrütungsdauer von 44 ± 4 h im ml als Gußplatte (Nähragar, Nährgelatine und Kiebo) ermittelt werden konnten. Die Bebrütungstemperatur betrug auf dem Nährboden Gelatine 2o° ± 2° C, während die Nährböden Agar und Kiebo sowohl bei 2o° ± 2° C als auch bei 37° ± 1° C bebrütet wurden.

Gesamtproben: 1134

a) Tafelwässer mit Kohlensäure = 56o

b) Tafelwässer ohne Kohlensäure = 574

	o bis 9 Kol./ml	1o bis 99 Kol./ml	1oo bis 999 Kol./ml	mehr als 999 Kol./ml
a) Tafelwässer mit Kohlensäure	11o1	9	8	2
b) Tafelwässer ohne Kohlensäure	863	75	13o	8o

Da in der Tabelle Nr. 1 auf einen Vergleich zwischen den Koloniezahlwerten der CO_2-haltigen bzw. stillen Tafelwässer Wert gelegt wurde, bleibt die eventuelle Erfassung einer unterschiedlichen Flora, die sich bei einer Bebrütungstemperatur von 2o° ± 2° C im Gegensatz zu einer Bebrütungstemperatur von 37° ± 1° C repräsentiert, unberücksichtigt. Die Tatsache, daß in der Tabelle mehr Proben als die 1134 Untersuchten anfallen, ist darauf

zurückzuführen, daß z.B. ein Wasser, das auf dem Nährboden Gelatine, Kiebo und Agar bei einer Bebrütungstemperatur von $37^{o} \pm 1^{o}$ C jeweils einen Koloniezahlwert von über 1ooo/ml aufweist, fünfmal in der Rubrik, mehr als 999 Keime/ml, erscheint.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die kohlensäurehaltigen Wässer im Gegensatz zu den 'Stillen' erheblich niedrigere Koloniezahlwerte aufweisen. Nur insgesamt auf 1o Gußplatten fanden wir bei kohlensäurehaltigen Wässern eine Koloniezahl von über 1oo/ml. Bei den stillen Wässern dagegen konnte auf 21o Gußplatten eine Koloniezahl von über 1oo/ml nachgewiesen werden. Besonders auffällig ist außerdem der hohe Anteil an Proben mit Koloniezahlen über 1ooo/ml bei den stillen Wässern.

Tabelle Nr. 2

Koloniezahlbestimmung der stillen und CO_2-haltigen Wässer nach 2 Tagen im ml als Gußplatte auf dem Nährboden Gelatine bei einer Bebrütungstemperatur von $2o^{o} \pm 2^{o}$ C.

	o bis 9 Kol./ml	1o bis 99 Kol./ml	1oo bis 999 Kol./ml	mehr als 999 Kol./ml
56o Proben Tafelwässer mit Kohlensäure	546 = 97,5 %	4 = o,7 %	8 = 1,4 %	2 = o,4 %
574 Proben Tafelwässer ohne Kohlensäure	356 = 62,o %	56 = 9,8 %	9o = 15,7 %	72 = 12,5 %

In der Tabelle Nr. 2 wurden die Koloniezahlen der Mineralwässer auf der Gelatinegußplatte dargestellt. Die CO_2-haltigen Wässer weisen im Gegensatz

zu den stillen Wässern erheblich geringere Koloniezahlwerte auf. Von den 56o untersuchten kohlensäurehaltigen Wässern hatten 546 oder 97,5 % eine Koloniezahl von unter 1o/ml. Bei vier Flaschen oder o,7 % konnte eine Koloniezahl, die im Bereich von 1o bis 99/ml lag, ausgezählt werden. Bei 8 Proben oder 1,4 % stellten wir einen Koloniezahlwert zwischen 1oo und 999/ml fest, dagegen wiesen nur 2 kohlensäurehaltige Wässer oder o,4 % eine Koloniezahl von über 1ooo/ml auf. Bei den stillen Mineralwässern konnten 356 Flaschen oder 62,o % mit einer Koloniezahl von unter 1o/ml ermittelt werden. 56 Proben oder 9,8 % hatten einen Koloniezahlwert zwischen 1o und 99/ml. 9o stille Wässer oder 15,7 % zeigten Werte, die im Bereich von 1oo bis 999 Kolonien/ml lagen. 72 oder 12,5 % wiesen einen Wert von über 1ooo Kolonien/ml. In diesem Bereich wird der Unterschied zwischen dem Keimgehalt von CO_2-haltigen und stillen Wässern besonders deutlich (vgl. o,4 % bzw. 12,5 %).

Tabelle Nr. 3

Koloniezahlen der Tafelwässer auf Agar-Nährboden nach 2 Tagen im ml als Gußplatte bei einer Bebrütungstemperatur von $2o^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C und 37° C.

	o bis 9 Kol./ml	1o bis 99 Kol./ml	1oo bis 999 Kol./ml	mehr als 999 Kol./ml	
Agar 22° C	7o,5 % 8oo	6,8 % 77	14,2 % 161	8,5 % 96	1oo % 1134 Fl.
Agar 37° C	9o,2 % 1o23	5,5 % 62	2,3 % 26	2,o % 23	1oo % 1134

Die Auswertung der Tabelle Nr. 3 ergibt, daß auf der Agar-Gußplatte, die bei 22° C bebrütet wurde, 257 Flaschen oder 22,7 % der insgesamt 1134 Pro-

ben eine Koloniezahl von über 1oo/ml aufwiesen. Bei einer Bebrütungstemperatur von 37° C waren es dagegen nur 49 oder 4,3 %. Koloniezahlen, die im Bereich von o bis 9/ml lagen, konnten auf der Agar-Gußplatte bei einer Bebrütungstemperatur von 22° C bei 8oo oder 7o,5 % der Flaschen festgestellt werden, während es bei einer Bebrütungstemperatur von 37° C 1o23 oder 9o,2 % waren. Auffällig ist, daß mit der Gelatine-Gußplatte mehr Proben mit Koloniezahlen unter 1o/ml (97,5 % zu 7o,5 %) anfallen, als bei der Agar-Gußplatte.

Tabelle Nr. 4

Von 343 untersuchten aus Frankreich kommenden stillen Wässern wurden nach 2 Tagen im ml als Gußplatte, auf den aufgeführten Nährböden folgende Koloniezahlwerte gefunden.

	o bis 9 Kol./ml	1o bis 99 Kol./ml	1oo bis 999 Kol./ml	mehr als 999 Kol./ml	
Gelatine 22° C	187 54,5 %	25 7,3 %	67 19,5 %	64 18,7 %	343 Fl. 1oo %
Agar 22° C	148 43,1 %	39 11,4 %	87 25,4 %	69 2o,1 %	343 Fl. 1oo %
Agar 37° C	285 83,1 %	42 12,2 %	16 4,7 %	o	343 Fl. 1oo %
Kiebo 22° C	136 39,7 %	2o 5,8 %	57 16,6 %	13o 37,9 %	343 Fl. 1oo %
Kiebo 37° C	252 73,5 %	7o 2o,4 %	21 6,1 %	o	343 Fl. 1oo %

Die Tabelle Nr. 4 zeigt, daß sowohl auf dem Agar-Nährboden als auch auf dem Kiebo-Nährboden bei einer Bebrütungstemperatur von 37° C keine Kolo-

niezahl über 999/ml ausgezählt werden konnte. Dagegen wurden auf dem Nährboden Kiebo bei einer Bebrütungstemperatur von 22° C 13o Proben oder 37,9 % ermittelt, die eine Koloniezahl über 999/ml hatten. Auf der Gelatinegußplatte und Agargußplatte waren es bei gleicher Bebrütungstemperatur 64 oder 18,7 % bzw. 69 oder 2o,1 %. Die Tatsache, daß auf der Kiebogußplatte bei einer Bebrütungstemperatur von 22° C ungefähr doppelt so viele Proben eine Koloniezahl von über 999/ml aufwiesen, als auf Nähr-Agar und Gelatine, deckt sich mit den Untersuchungen von G. MÜLLER, die bei einer Vergleichsuntersuchung von Gelatine- und Kiebogußplatten von Mineralwässern bei der Kiebogußplatte ebenfalls erheblich höhere Koloniezahlen erhalten hat (38). Sie wirft daher die Frage auf, ob durch den höheren Anteil von anorganischen Stoffen im Kiebonährboden und einem höheren Mineraliengehalt im Tafelwasser durch diese Bestimmungsmethode eine andere Bakterienflora erfaßt wird.

Tabelle Nr. 5

Von 218 untersuchten deutschen nicht-kohlensäurehaltigen Wässern ergaben sich nach einer Bebrütungszeit von 2 Tagen folgende Koloniezahlwerte im ml als Gußplatte.

	o bis 9 Kol./ml	1o bis 99 Kol./ml	1oo bis 999 Kol./ml	mehr als 999 Kol./ml	
Gelatine	156	31	23	8	218 Fl.
22° C	71,6 %	14,2 %	1o,6 %	3,7 %	1oo %
Agar	125	21	5o	22	218 Fl.
22° C	57,3 %	9,6 %	22,9 %	1o,1 %	1oo %
Agar	178	9	8	23	218 Fl.
37° C	81,7 %	4,1 %	3,7 %	1o,6 %	1oo %
Kiebo	1o1	21	41	55	218 Fl.
22° C	46,3 %	9,6 %	18,8 %	25,2 %	1oo %
Kiebo	163	2o	14	21	218 Fl.
37° C	74,8 %	9,2 %	6,4 %	9,6 %	1oo %

Auf den Nährböden, die bei 22° C bebrütet worden sind, fanden wir auf der Gelatinegußplatte 8 Proben oder 3,7 %, auf der Kiebogußplatte 55 Proben oder 25,2 %, auf dem Agar-Nährboden 22 oder 1o,1 %, die eine Koloniezahl von über 999/ml aufwiesen. Auf der Agargußplatte bzw. der Kiebogußplatte, die bei 37° C bebrütet wurde, waren es 23 oder 1o,6 % bzw. 21 oder 9,6 %. Danach liegt der Anteil an bakteriologisch nicht einwandfreien, d.h. solchen mit einer Koloniezahl von über 999/ml bei den aus Frankreich stammenden stillen Mineralwässern deutlich höher (im Mittel um 1o %; Verhältnis deutsch-französische Wässer bei 22° C Bebrütungstemperatur von 16 % zu 26 %).

3.2.2 Andere Befunde

Tabelle Nr. 6

Nachweis von E. coli, coliformen Keimen, Darmstreptokokken, sulfitreduzierenden sporenbildenden Anaerobiern, Pseudomonas aeruginosa und Salmonellen in stillen Tafelwässern.

Von den 574 untersuchten stillen Wässern waren positiv für

E. coli	11	=	1,92 %
coliforme Keime	11	=	1,92 %
Darmstreptokokken	24	=	4,18 %
sulfitreduzierenden, sporenbildenden Anaerobiern	8	=	1,39 %
Pseudomonas aeruginosa	39	=	6,79 %
Salmonellen	0	=	0 %

Die Tabelle Nr. 6 zeigt, daß von den untersuchten 574 stillen Wässern in 11 Flaschen E. coli nachzuweisen waren. In 11 Flaschen waren coliforme Bakterien enthalten. 24 stille Wässer enthielten Darmstreptokokken. Sulfitreduzierende, sporenbildende Anaerobier konnten in 8 Flaschen gefunden werden. Pseudomonas aeruginosa wurde in 39 Flaschen nachgewiesen. Keine der 574 untersuchten stillen Wässer war positiv für Salmonellen.

Tabelle Nr. 7

Nachweis von E. coli, coliformen Keimen, Darmstreptokokken, sulfitreduzierenden sporenbildenden Anaerobiern, Pseudomonas aeruginosa und Salmonellen in

kohlensäurehaltigen Tafelwässern.

Von den 560 untersuchten CO_2-haltigen Wässern waren positiv für

E. coli	2	=	0,36 %
coliforme	8	=	1,43 %
Darmstreptokokken	23	=	4,11 %
sulfitreduzierenden, sporenbildenden Anaerobiern	1	=	0,18 %
Pseudomonas aeruginosa	11	=	1,96 %
Salmonellen	0	=	0 %

Aus der Tabelle Nr. 7 ist zu ersehen, daß von den untersuchten 560 kohlensäurehaltigen Tafelwässern nur 2 Flaschen positiv für E. coli, 8 Flaschen positiv für Coliforme und 23 Flaschen positiv für Darmstreptokokken waren. Sulfitreduzierende sporenbildende Anaerobier konnten in einer Flasche gefunden werden, während Pseudomonas aeruginosa in 11 Flaschen nachgewiesen wurde. Keine der untersuchten 560 kohlensäurehaltigen Tafelwässer enthielt Salmonellen.

Andererseits zeigt die Tabelle, daß die positiven Befunde in jedem Falle unter den bei der Untersuchung von kohlensäurefreien Mineralwässern ermittelten Werten liegen (Verhältnis etwa 3,3 % zu 1,6 % oder 18 zu 9, d.h. die ermittelten positiven Flaschen sind bei kohlensäurefreien Wässern doppelt so hoch).

3.2.3 Beimpfungsversuche

Tabelle Nr. 8

Die Tabelle Nr. 8 gibt uns Aufschluß darüber, ob sich die in ein stilles Tafelwasser eingeimpften Bakterien vermehren oder vermindern (Versuchsanordnung s. Material und Methodik).

Stilles Tafelwasser beimpft mit

Untersucht n. Tagen	E.coli	Aeromonas hydrophila	Pseudomonas aeruginosa	Aerobacter aerogenes	S.typhi murium	Vibrio Metschnikov	Pseudomonas fluoreszens
sofort	600	400	1600	30	8	430	5400
1	800	450	1300	30	8	390	1900
2	700	450	1100	30	10	440	1300
8	4	100	640	10	6	420	800
9	10	40	630	10	0	410	80
14	2	0	360	8	0	60	240
21	0	0	230	2	0	20	20
28	0	0	0	0	0	20	10

Aus der Tabelle Nr. 8 ist zu ersehen, daß die Koloniezahlen aller Bakterienarten im Laufe der Versuchsdauer abnehmen.

E. coli hatte nach dem ersten Tag noch einen Koloniezahlwert von 800/ml. Nach 8 Tagen konnten nur noch 4 Kolonien/ml ausgezählt werden. Sowohl nach dem 21. sowie nach dem 28. Versuchstag konnten keine Kolibakterien mehr festgestellt werden.

Aeromonas hydrophila zeigte ebenfalls eine kontinuierliche Abnahme der Kolonien/ml. Konnten bei Beginn des Versuchs noch 4oo Kolonien/ml gefunden werden, so waren nach dem 9. Versuchstag nur noch 4o Kolonien/ml auf den Platten auszählbar. Nach dem 14., 21. und 28. Versuchstag konnten keine Kolonien mehr nachgewiesen werden.

Bei Pseudomonas aeruginosa betrug der Anfangswert 16oo Kolonien/ml, der jedoch im Laufe der Versuchszeit stetig abnahm. Nach 28 Tagen waren keine Kolonien mehr nachweisbar.

Aerobacter aerogenes zeigte eine ständige Abnahme der Koloniezahlen im Versuchszeitraum. Nach 28 Tagen konnten keine Kolonien mehr gefunden werden.

Bei S. typhi-murium konnte bei Beginn des Versuchs ein Koloniezahlwert von 1o/ml abgelesen werden. Während nach der ersten Woche weder eine Vermehrung noch eine Abnahme der Kolonien zu ermitteln war, konnten nach dem 9. Tag keine Kolonien mehr festgestellt werden.

Die Koloniezahlen von Vibrio Metschnikov waren bis zum 9. Tag annähernd konstant. Erst nach 14 Tagen konnten wir eine deutliche Abnahme der Koloniezahl von 42o/ml auf 6o/ml beobachten. Am Schluß der Versuchsdauer konnte noch eine Koloniezahl von 2o/ml auf der Platte ausgezählt werden.

Der Koloniezahlwert von Pseudomonas fluoreszens zeigte eine stetige Abnahme. Der Anfangswert betrug 54oo Kolonien/ml, während am Ende der Versuchsdauer nach 28 Tagen nur noch 1o Kolonien/ml auf der Platte ausgezählt werden konnten.

Tabelle Nr. 9

Die Tabelle Nr. 9 gibt uns Angaben über das Verhalten der aufgeführten Bakterien, die in ein steril gemachtes stilles Wasser eingeimpft wurden (Versuchsordnung s. Material und Methodik).

Im Autoklaven sterilisiertes stilles Tafelwasser beimpft mit

Untersucht n. Tagen	E.coli	Aeromonas hydrophila	Pseudomonas aeruginosa	Aerobacter aerogenes	S.typhimurium	Vibrio Metschnikov	Pseudomonas fluoreszens
sofort	630	500	1300	36	8	28	2700
1	900	500	1600	68	60	2	6700
2	900	700	2000	150	420	88	3000
8	1600	1300	4300	360	100	16	600
9	3200	1600	8100	320	0	23	400
14	2700	1700	6500	300	0	2	220
21	2200	4800	19000	380	0	26	300
28	2400	2900	21000	330	0	4	130

Bei E.coli wurde bei Beginn dieses Versuchs ein Koloniezahlwert von 630/ml ausgezählt. Es konnte eine leichte Zunahme der Koloniezahl/ml beobachtet werden. Nach 28 Tagen fanden wir eine Koloniezahl von 2400/ml.

Die Koloniezahlen/ml von Aeromonas hydrophila zeigten eine leichte Zunahme. Wir konnten einen Ausgangswert von 500 Kolonien/ml auszählen. Am Ende der Versuchsdauer, also nach 28 Tagen, waren es 2900 Kolonien/ml. Den höchsten Wert konnten wir nach 21 Versuchstagen ablesen, er betrug 4800 Kolonien/ml

und lag damit erheblich über den Koloniezahlwerten, die bei Aeromonas hydrophila bei der ganzen Versuchsdauer gefunden werden konnte.

Bei Pseudomonas aeruguinosa konnten wir eine erhebliche Zunahme der Koloniezahlen/ml beobachten. Wir konnten am Beginn des Versuchszeitraumes eine Koloniezahl von 1300/ml auszählen. Am Ende des Versuchs betrug die Koloniezahl 21.000/ml.

Aerobacter aerogenes zeigte nach den ersten 2 Versuchstagen eine leichte Erhöhung der Koloniezahl von 36/ml auf 156/ml. Nach dem 8. Versuchstag fanden wir einen Anstieg auf 360 Kolonien/ml. Vom 8. Versuchstag an bleiben die Koloniezahlwerte konstant. Die Koloniezahl nach 28 Tagen betrug 330 Kolonien/ml.

Die Koloniezahl von S.typhi-murium erhöhte sich nach den ersten 2 Versuchstagen etwas. Der Wert nach dem 2. Versuchstag betrug 100 Kolonien/ml. Nach dem 8. Versuchstag bis zum Ende des Versuchs konnte S. typhi-murium nicht mehr nachgewiesen werden.

Die Koloniezahl/ml von Vibrio Metschnikov blieb während der Versuchsdauer fast gleich. Wir registrierten einen Anfangswert von 28 Kolonien/ml und einen Endwert nach 28 Tagen von 4 Kolonien/ml. Der höchste Koloniezahlwert ergab sich nach dem 2. Ablesetag mit 88 Kolonien/ml.

Die Koloniezahlen von Pseudomonas fluoreszens zeigten nach den ersten 3 Ablesungen eine Erhöhung. Der Koloniezahlwert der ersten Auszählung betrug 2700 Kolonien/ml. Nach dem ersten Untersuchungstag fanden wir eine Koloniezahl von 6700/ml, nach dem 2. Untersuchungstag eine Koloniezahl von 3000/ml. Danach nahm der Koloniezahlwert stetig ab. Wir konnten nach 28 Tagen, also

am Ende der Versuchsdauer, nur noch eine Koloniezahl von 13o/ml auf den Platten auszählen.

Tabelle Nr. 1o

Tabelle Nr. 1o gibt Aufschluß über das Verhalten der in der Tabelle aufgeführten Bakterienarten, nachdem diese in ein kohlensäurehaltiges Wasser eingeimpft wurden (Versuchsanordnung s. Material und Methodik).

Kohlensäurehaltiges Tafelwasser beimpft mit

Untersuchtn. Tagen	E.coli	Aeromonas hydrophila	Pseudomonas aeruginosa	Aerobacter aerogenes	S.typhimurium	Vibrio Metschnikov	Pseudomonas fluoreszens
sofort	7oo	4oo	14oo	36	2o	84oo	6oo
1	51o	28o	88o	14	6	4	75oo
2	49o	6o	14oo	34	3	22	54ooo
8	16oo	9oo	54oo	81oo	2	4o	81ooo
9	15oo	16oo	86oo	157oo	1	28	12ooo
14	16oo	18oo	16ooo	27ooo	o	2	12ooo
21	11oo	25oo	43ooo	66ooo	o	1o	14ooo
28	13oo	26oo	54ooo	77ooo	o	4	12ooo

Die Koloniezahlen von E. coli zeigen in den ersten 3 Auszählungen eine leichte Abnahme von 7oo Kolonien/ml auf 49o/ml. Danach ist ein Anstieg zu verzeichnen. So erhielten wir nach dem 8. Ablesetag einen Koloniezahlwert von 16oo/ml, der sich bis zum Ende der Versuchsdauer kaum änderte. Die Koloniezahl am Ende der Versuchsdauer betrug 13oo/ml.

Aeromonas hydrophila zeigte etwa das gleiche Verhalten wie E. coli. Wir hatten nach 8 Tagen eine Abnahme von 4oo Kolonien/ml auf 6o Kolonien/ml zu registrieren. Nach dem 8. Tag konnten wir einen Anstieg auf 9oo Kolonien/ml beobachten. Am Ende des Versuchs betrug die Koloniezahl 26oo/ml.

Wie aus der Tabelle Nr. 1o zu ersehen ist, zeigt Pseudomonas aeruginosa nach den ersten 3 Auszählungen, die keine großen Veränderungen ergeben haben, ein starkes Anwachsen der Koloniezahl/ml. Nach dem 2. Untersuchungstag haben wir eine Koloniezahl von 14oo/ml gefunden. Nach dem 8. Untersuchungstag betrug diese schon 54oo/ml. Nach dem 28. Untersuchungstag erreichte sie eine Höhe von 54.ooo/ml.

Die Auszählung der Koloniezahlen ergaben bei Aerobacter aerogenes nach den ersten 3 Bestimmungen konstante Ergebnisse. Nach dem 2. Untersuchungstag konnten wir 34 Kolonien/ml auszählen. Nach dem 8. Untersuchungstag waren es schon 8ooo/ml. Am Ende der Versuchsdauer nach 28 Tagen fanden wir eine Koloniezahl von 77ooo/ml.

Die Auszählungen von S. typhi-murium, die sofort und nach dem 1., 2., 8. und 9. Tag durchgeführt wurden, zeigten eine leichte Abnahme der Koloniezahl/ml. Wir fanden einen Anfangswert von 16 Kolonien/ml. Die Koloniezahl nach 9 Tagen betrug nur noch 1 Kolonie/ml. Nach dem 14., 21. und 28. Tag konnten keine Salmonellen mehr nachgewiesen werden.

Beim Vibrio Metschnikov hatten wir einen Anfangswert von 84oo Kolonien/ml. Die zweite Messung ergab eine Koloniezahl von 4 Kolonien/ml, die sich bis zum Ende der Versuchsdauer nahezu konstant hielt. Der Endwert betrug ebenfalls 4 Kolonien/ml.

Die erste Bestimmung von Pseudomonas fluoreszens ergab eine Koloniezahl von 600/ml. Nach 2 Tagen betrug der Koloniezahlwert schon 54000 Kolonien/ml. Die höchste Koloniezahl fanden wir nach 8 Tagen mit 81000 Kolonien/ml. Am Ende der Versuchsdauer nach 28 Tagen betrug die Koloniezahl nur noch 12000 Kolonien/ml.

Aus diesen Versuchsergebnissen ist gegenüber den in Tabelle Nr. 9 für ein stilles Wasser dargestellten Koloniezahlen kein Einfluß der Kohlensäure auf die Lebensdauer der eingeimpften Bakterien zu erkennen. Das mag jedoch in dem Entweichen der Kohlensäure aus den Glasschlifflaschen begründet sein, die zum Beimpfen ständig geöffnet werden mußten. Man muß also davon ausgehen, daß am Ende der Versuchsreihe nur noch ein Minimum an Kohlensäure enthalten war.

Tabelle Nr. 11

Die Tabelle Nr. 11 zeigt das Verhalten der aufgeführten Bakterienarten, nachdem diese in ein im Autoklaven sterilisiertes kohlensaurehaltiges Tafelwasser eingeimpft wurden (Versuchsanordnung s. Material und Methodik).

Steril gemachtes kohlensäurehaltiges Tafelwasser beimpft mit

Untersucht n. Tagen	E.coli	Aeromonas hydrophila	Pseudomonas aeruginosa	Aerobacter aerogenes	S.typhimurium	Vibrio Metschnikov	Pseudomonas fluoreszens
sofort	580	400	1300	28	6	400	5400
1	570	360	1100	2000	75	4	10000
2	700	340	4800	4700	0	40	5400
8	1400	1200	6500	7000	0	4	8100
9	1700	430	10000	16000	0	4	2200
14	1400	30	16000	24000	0	4	960
21	1100	0	18000	66000	0	14	80
28	1100	0	16000	54000	0	24	80

E. coli zeigte in den ersten 3 Messungen kaum Schwankungen in der Koloniezahl. Wir zählten einen Anfangswert von 58o Kolonien/ml aus, der sich auch in den folgenden Messungen nur unwesentlich erhöhte. Die Koloniezahl nach 28 Tagen betrug 11oo/ml.

Die Koloniezahl von Aeromonas hydrophila blieb bis zu dem 9. Untersuchungstag nahezu konstant. Wir registrierten am Beginn des Versuchs eine Koloniezahl von 4oo/ml. Nach dem 8. Meßtag konnten wir eine Erhöhung der Koloniezahl auf 12oo/ml feststellen. Nach 14 Tagen konnte nur noch eine Koloniezahl von 3o/ml gefunden werden. An den beiden letzten Meßtagen, d.h. nach dem 21. und 28. Tag, konnten keine Aeromonaden mehr nachgewiesen werden.

Pseudomonas aeruginosa zeigte in den ersten beiden Messungen eine Koloniezahl von 13oo/ml bzw. 11oo/ml. Danach konnten wir eine Zunahme der Koloniezahl nach dem 2., 8. und 9. Tag auf 48oo/ml, 65oo/ml bzw. 1oooo/ml registrieren. Die Koloniezahlwerte nach 14, 21 und 28 Tagen waren mit 16ooo/ml, 18ooo/ml und 16ooo/ml etwa konstant.

Die Koloniezahl von Aerobacter aerogenes stieg ständig stark an. Wir konnten einen Anfangswert von 28 Kolonien/ml auszählen. Nach 8 Tagen betrug die Koloniezahl schon 7ooo/ml, um am Ende des Versuchs nach 28 Tagen einen Wert von 54ooo Kolonien/ml zu erreichen.

Die ersten beiden Messungen von S. typhi-murium ergaben eine Koloniezahl von 6/ml bzw. 75/ml. Danach folgte ein starker Anstieg. Nach dem 2. Versuchstag konnte eine Koloniezahl von 14ooo/ml ausgezählt werden. Am Ende des Versuchs betrug die Koloniezahl 54ooo/ml.

Die Anfangskoloniezahl von Vibrio Metschnikov betrug 4oo/ml. Nach dem ersten Untersuchungstag fanden wir nur noch eine Koloniezahl von 4/ml. Diese Koloniezahl änderte sich bis zum Ende des Versuchs kaum.

Die Koloniezahl von Pseudomonas fluoreszens zeigte in den ersten 4 Messungen kaum eine Abnahme. Erst nach dem 9. Versuchstag konnten wir eine Abnahme auf 22oo Kolonien/ml gegenüber einem Anfangswert von 54oo Kolonien/ml feststellen. Der Endwert der Koloniezahl betrug 8o/ml.

Durch die Verwendung eines sterilisierten kohlensäurehaltigen Wassers ist gleichfalls eine Bakterienabtötung durch die Kohlensäure nicht zu erkennen (Ausnahme Aeromonas hydrophila).

Tabelle Nr. 12

Vergleich zwischen dem Bakterienwachstum in 5oo ml sterilem Leitungswasser zu dem Bakterienwachstum in 5oo ml sterilem Leitungswasser, in dem 13oo mg $CaSO_4$ gelöst wird, nach Einimpfung der unten aufgeführten Bakterienstämme.

Untersucht n. Tagen	E. coli		Ps. aeruguinosa		S. typhi-murium	
	m.$CaSO_4$	o.$CaSO_4$	m.$CaSO_4$	o.$CaSO_4$	m.$CaSO_4$	o.$CaSO_4$
1	21o	36o	15ooo	13ooo	6	23
2	15o	4oo	2oooo	64oooo	3	22
3	66	36o	26ooo	1o8oooo	1	22
4	2	31o	2oooo	1o8oooo	3	13
5	4	34o	13ooo	1o8oooo	o	o
6	1o	36o	16oo	1o8oooo	o	3
7	6	28o	7oo	64oooo	3	o
8	4	28o	12oo	8ooooo	o	o

Bei E. coli war in 500 ml sterilem Leitungwasser, in dem 1300 mg $CaSO_4$ gelöst wurde, ein kontinuierlicher Rückgang der Koloniezahl beobachtet worden, während ohne $CaSO_4$-Zusatz der Koloniezahlwert vom 1. bis zum 8. Untersuchungstag unverändert blieb.

Ps. aeruguinosa zeigte mit $CaSO_4$-Zusatz erst nach dem 5. Untersuchungstag eine deutliche Abnahme der Koloniezahl, während wir ohne $CaSO_4$-Zusatz eine Erhöhung der Koloniezahl/ml beobachten konnten.

Sowohl mit als auch ohne $CaSO_4$-Zusatz konnten wir ein Absinken der Koloniezahl bei S. typhi-murium beobachten. Nach dem 8. Untersuchungstag konnte S. typhi-murium sowohl mit $CaSO_4$ als auch ohne $CaSO_4$-Zusatz nicht mehr nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zur Kohlensäure hat also $CaSO_4$ kaum Einfluß auf die Abnahme der Bakterienzahl.

4. DISKUSSION

Die Höhe der Koloniezahl in einem Tafelwasser wird von einigen Autoren als Verunreinigungsindikator angesehen (19, 23, 51). Es wurde bei den in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen dann eine Koloniezahl als erhöht angesehen, wenn ein Wert von 1oo Kolonien/ml überschritten wurde. Es wurde davon ausgegangen, daß unser Trinkwasser maximal bis zu 1oo Kolonien/ml enthalten darf und somit dieser Richtwert in Tafelwässern nicht überschritten werden sollte.+ Es wird durch gezielte Werbung in Tageszeitungen und Illustrierten dem Verbraucher suggeriert, wie sauber und rein die Tafelwässer sind. Dadurch greifen immer größere Teile der Bevölkerung, zur Deckung ihres Flüssigkeitsbedarfs, aber auch zur Nahrungsmittelzubereitung (besonders für Säuglinge) auf Tafelwässer zurück. Sie halten in den meisten Fällen in Unkenntnis der Sachlage das eigentliche Trinkwasser für nicht appetitlich genug. Dem steht entgegen, daß einige der untersuchten Tafelwässer Koloniezahlen hatten, die die Millionengrenze/ml überschritten.

Wenn sich die Meinung durchsetzen sollte, daß den vorwiegend saprophytischen Wasserkeimen im Mineralwasser keine hygienische Bedeutung zukommt, 12, 37, 5o), so wird dem mit Recht entgegengehalten werden müssen, daß ein keimreiches Wasser kein appetitliches Wasser sein kann (47, 48). Seit langem steht fest, daß der Keimgehalt in ruhig stehenden oder geschlossen lagernden Wässern Schwankungen unterliegt (4). In der Regel wird sich nach anfänglicher Vermehrung wieder ein Rückgang der Koloniezahl finden. Verschiebungen im Keimgehalt werden also mit Sicherheit zu beobachten sein. Sie sind ebenfalls von der Lagerungszeit, Lagerungstemperatur sowie den Wasserinhaltsstoffen abhängig (1o, 42, 43). Die angeführten Aspekte mußten, da kein Kennzeichnungszwang für die Flaschen besteht, jedoch leider unberück-

+ Die Grenzwerte werden im Augenblick neu diskutiert. Es sind Grenzwerte von 1oo Kolonien/ml aber auch von 1ooo Kolonien/ml im Gespräch. Bei der Durchführung der Dissertation galt aber noch ein Grenzwert von 1o Kolonien/ml.

sichtigt bleiben, da die Proben in Läden käuflich erworben wurden, und somit nicht festgestellt werden konnte, wann sie abgefüllt und wielange und bei welcher Temperatur sie gelagert wurden.

3o % der 1134 Wässer wiesen auf Gelatinegußplatten 22° Koloniezahlen von über 1oo/ml auf. Schlüsselt man diese 3o % oder 172 Proben auf die 56o CO_2-haltigen bzw. 574 stillen Wässer auf, so ergibt sich bei den kohlensäurehaltigen Tafelwässern nur ein Prozentsatz von 1,8, während es bei den stillen Wässern 28,2 % waren, die den Wert von 1oo Kolonien/ml überschritten haben. Die Ansicht der Autoren, die behaupten, daß in einem kohlensäurehaltigen Wasser die Keime zum Teil absterben oder am Wachstum gehindert werden (1, 18, 2o, 33, 46), kann durch die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse als nicht bestätigt angesehen werden. Dies gilt besonders für E. coli und coliforme.

Von den untersuchten 343 stillen Wässern waren auf dem Nährboden Kiebo 22° 187 Flaschen oder 54,5 % vorhanden, die einen Koloniezahlwert von über 1oo/ml aufwiesen, während es bei den deutschen stillen Wässern 44 % oder 89 der untersuchten 218 Proben waren. Bemerkenswert ist,daß 13o Flaschen oder 37,9 % der französischen stillen Wässer einen Koloniezahlwert von über 1ooo/ml hatten. Nur 16 oder 4,7 % der französischen stillen Wässer wiesen als Agargußplatte und einer Bebrütungstemperatur von 37° C einen Koloniezahlwert von über 1oo/ml auf, während es bei den deutschen stillen Wässern 14,3 % oder 31 Proben waren. Auf der Gelatinegußplatte, die uns die Möglichkeit des unmittelbaren Nachweises von fluoreszierenden, gelatineverflüssigenden Pseudomonaden ermöglicht, fanden wir bei den deutschen stillen Wässern 14,3 % oder 31 Flaschen, die eine Koloniezahl von 1oo/ml überschritten, während es bei den französischen Wässern 131 Flaschen oder 38,3 % waren.

Auf dem Agar-Nährboden, der bei einer Temperatur von 22° C bebrütet wurde, fanden wir erheblich mehr Proben sowohl CO_2-haltiger als auch stiller Tafelwässer, die einen Koloniezahlwert von 1oo/ml überschritten als auf dem gleichen Nährboden, der bei einer Temperatur von 37° C bebrütet wurde (vgl. Tabelle Nr. 3).

Der Nachweis von E. coli, dem bevorzugten Indikatorkeim für eine faekale Verunreinigung, gelang bei 13 Proben oder 2,28 % (vgl. Tabelle Nr. 6 und 7). Davon waren jedoch nur 2 Proben CO_2-haltig, während es sich bei den anderen 11 Proben um stille Wässer handelte. Der ermittelte Prozentsatz von 2,28 % E. coli positiver Proben liegt erheblich niedriger als z.B. bei ZIMMERMANN (51), der bei seinen Untersuchungen 1958 9 % E. coli bei Hebelverschlußflaschen, 9 % E. coli bei Kronenkorkenflaschen und 47 % E. coli bei Schraubstopfenflaschen nachweisen konnte. Coliforme Keime, die als faekalen Ursprungs ermittelt wurden, sind von ihm in 19 Flaschen oder 2,35 % nachgewiesen worden.

Darmstreptokokken wurden in 47 oder 8,29 % aller 1134 untersuchten Proben gefunden. Die sulfitreduzierenden sporenbildenden Anaerobier wurden in 8 Proben oder 1,39 % der 574 untersuchten stillen Wässer nachgewiesen, während nur 1 Probe oder o,18 % der 56o untersuchten CO_2-haltigen Wässer sulfitreduzierende, sporenbildende Anaerobier enthielt.

Pseudomonas aeruguinosa wird als Verunreinigungskeim angesehen, da er in jedem Siedlungsabwasser vorkommt. Insgesamt wurden bei den Untersuchungen 5o Flaschen gefunden, die Pseudomonas aeruguinosa enthielten, das sind 78 % der untersuchten 1134 Proben.

Keime der Salmonella-Gruppe konnten in keinem Fall nachgewiesen werden.

Die Auswertung der durchgeführten Beimpfungsversuche, die bei Zimmertemperatur durchgeführt wurden, ergab, daß die eingeimpften Bakterienstämme in CO_2-haltigem Wasser genau so gut überlebten, sich teilweise sogar vermehrten, wie in einem stillen Wasser. Der Kohlensäuregehalt in unseren deutschen Mineral- und Tafelwässern trägt also nicht zur Abtötung der durch Verunreinigungen eingebrachten Bakterien bei, sondern verhindert offensichtlich nur, daß sich die wenigen stets in einem Wasser vorkommenden Keime bei Transport und Lagerung vermehren. Sie ist vermutlich auf diese Weise dafür verantwortlich, daß kohlensäurehaltige Wässer, gemessen an der Koloniezahl, in der Regel bakteriologisch einwandfrei sind. In die Flaschen gelangte Faekalindikatoren wie E. coli, coliforme Keime, Darmstreptokokken, Clostridien oder Pseudomonas aeruguinosa kann sie nicht beseitigen.

Zusätzlich wurde der Silbergehalt des betreffenden Wassers untersucht. Die Silberung spielte zunächst in den Nachkriegsjahren bei der Desinfektion von Tafelwässern eine Rolle, ist aber nach dem augenblicklichen Stand der Lebensmittelgesetzgebung für Mineralwässer verboten. Trotzdem hatten 64 deutsche und 3 französische Proben einen Silbergehalt von über o,2 .

Da ein stilles französisches Mineralwasser-Fabrikat einen sehr hohen $CaSO_4$-Gehalt aufwies und nach der bakteriologischen Untersuchung wesentlich besser abschnitt, als andere stille Wässer ohne diese Substanz, wurden an diesem Tafelwasser zusätzliche Beimpfungsversuche durchgeführt (vgl. Tabelle Nr. 12). Es wurde das Verhalten von drei Bakterienarten (E. coli, Ps. aeruguinosa und S. typhi-murium) bei Einimpfung in 5oo ml sterilem Leitungswasser und in 5oo ml sterilem Leitungswasser, in dem 13oo mg $CaSO_4$

gelöst wurden, geprüft. Die Menge von 1300 mg entspricht der in dem bewußten stillen Tafelwasser enthaltenen Menge von $CaSO_4$. Aus diesem Versuch ergab sich, daß die eingeimpften Bakterien in dem Wasser mit $CaSO_4$-Zusatz im Gegensatz zu dem $CaSO_4$-freien Wasser eine deutliche Abnahme zeigten, (E. coli etwa 100 zu 1, Ps. aeruguinosa etwa 1000 zu 1, S. typhi-murium etwa 10 zu 1), so daß der $CaSO_4$-Gehalt als Erklärung für die relativ häufigen bakteriologisch einwandfreien Befunde in diesem Wasser angesehen werden kann.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Zur Bestimmung des bakteriologisch-hygienischen Zustands der gegenwärtig im Handel befindlichen Tafelwässer wurden insgesamt 1134 Proben 47 verschiedener Firmen untersucht. Dabei handelte es sich bei 560 Flaschen um kohlensäurefreie Wässer und bei 574 Flaschen um kohlensäurehaltige Tafelwässer. Insgesamt 30 % aller untersuchten Proben hatten eine Koloniezahl von über 100/ml, besaßen also keine Trinkwasserqualität. E. coli als Indikator einer faekalen Verunreinigung konnte in insgesamt 13 Proben oder 2,28 % nachgewiesen werden. Die wesentlich besseren bakteriologischen Befunde bei CO_2-haltigen Tafelwässern sind vermutlich darauf zurückzuführen, daß die Kohlensäure die wenigen bei der Abfüllung in jedem Wasser vorhandenen autochthonen Bakterien während Transport und Lagerung an der Vermehrung hindert.

Bei den Beimpfungsversuchen wurde sowohl ein kohlensäurehaltiges als auch ein stilles Wasser im Autoklaven sterilisiert und dann beimpft. Nach dem Sterilisationsvorgang konnte man das CO_2-haltige Wasser auch als ein stilles Wasser ansehen. Wenn sich jedoch Unterschiede im Bakterienwachstum ergeben haben, so ist das nicht auf einen unterschiedlichen Gehalt an CO_2 sondern auf den unterschiedlichen Gehalt an mineralischen Stoffen zurückzuführen.

30 % aller untersuchten Tafelwässer hatten bakteriologisch gesehen keine Trinkwasserqualität. Dies sollte zu denken geben und Anregung dafür sein, daß der durch Werbung und Wirtschaft stark in den Vordergrund gerückte ansteigende Verbrauch an Tafelwasser, keine hygienisch-bakteriologisch bessere Qualität für den Verbraucher bringt, als das unter Kontrolle befindliche Trinkwasser aus der öffentlichen Versorgung, für das es als besserer Ersatz angeboten wird.

6. SCHRIFTTUM

1) Bader, M.
Keimzahlen im Mineralwasser. Inaug.-Diss., Erlangen (1953)

2) Barth, H.
Kunststoffe zur Oberflächenbehandlung, besonders in Trinkwasserbehältern, ein mikrobiologisches Problem, Arch.Hyg. 153, 3, (1969) 196 - 2o4

3) BMGes
betr. Viruserkrankungen als Gruppenerkrankungen nach dem Baden in Hallenbädern. Erlaß I A 3 - 4212 - 23 - 2o17/64 - vom 27.1.1964 an die obersten Gesundheitsbehörden der Länder, s. auch Arch. Badewesen 17, 4 (1964) 92

4) Bolton, M.
Über das Verhalten verschiedener Bakterienarten im Trinkwasser, Zschr. Hyg. 1, (1886) 76 - 114

5) Boudier, M.L. u. Cardey, G.
Nettoyage et desinfection des flacons destinés à recevoir des loux minérales, Ann. Inst. Past. Lille 11 (196o) 55

6) Buttiaux, R.
La surveillance des laux minérales en bouteils et en boites. Ann. Inst. Pæt. Lille 11, (196o) 23

7) Buttiaux, R. u. Boudier, M.L.
Comportement des bacteries autotrophes dous les eaux minérales conservées en récipients hermétiquement chos. Ann.Inst. Pasteur 11, (196o) 43

8) Contrex
Dokumentationen über die bakteriologisch-hygienische Situation stiller Mineralwässer (Oktober 1972)

9) Czaplewski, C.
Versuche mit einem neuen Apparat zur Darstellung künstlicher Mineralwässer. Hyg.Rdsch. 5, (1895) 829 - 837 und 884 - 892

1o) Dambowy, L.
Unsere derzeitigen Kenntnisse vom Altern der Mineralwässer,
Inaug.-Diss. Marburg (1949)

11) DIN 2000
'Leitsätze für die Zentrale Trinkwasserversorgung'.
Deutscher Normenausschuß, Ausgabe Mai 1959

12) Dräer, A.
Die Bakterien der künstlichen Mineralwässer, speziell des Selterswassers, und der Einfluß der Kohlensäure auf dieselben sowie auf Choleravibrionen.
Zbl. all. Gesd. pfl. 14, (1895) 424 - 438

13) Fazio, E.
I microbi delle acqua minerali
Neapel (1888), Ref. Zbl. Bakt. 6, (1889) 294

14) Fränkel, C.
Die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen. Zschr. Hyg. 5, (1889) 332 - 362

15) Fresenius, W.
Grundbegriffe der Mineralwasserchemie
Dtch. Bäderkalender, Flottmann Gütersloh, Ausgabe 1958

16) Fresenius, W.
Natürliche Mineralwässer in Deutschland
Der Naturbrunnen 15, (1965) 224

17) Fromm, E.
Über Tafelwasser in rechtlicher und hygienischer Beziehung
Viertelj. Schr. Med. 25, (1903) 94 - 122

18) Gärtner, A.
Leitfaden der Hygiene, Berlin (1909)

19) Gehring, A.
Über die Ergebnisse 5-jähriger bakteriologischer Kontrollen in Mineralbrunnenbetrieben
Arch. Hyg. 143, (1959) 456 - 472

20) Gotschlich, E.
Natürliche Mineralwässer und künstliche kohlensaure Wässer im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle, Kraus & Uhlenhuth 1, (1929)

21) Grün, L. u. Gott, K.
Über den Keimgehalt des Turbinensprays
Dtsch. Zahnärztl. Zschr. 24, (1969) 189

22) Grün, L.
Herkunft und Wirkung der Ps. pyocyanea in der Milch
Milchwiss. 24, (1969) 14

23) Habs, H. u. Langeloh, H.
Die Bedeutung der sogenannten atypischen Colibakterien für die Trinkwasserbeurteilung
Arch. Hyg. 142, (1958) 4o1 - 414

24) Habs, H. u. Müller, H.
Zur Differenzierung der coliformen Bakterien bei der Trinkwasseruntersuchung
Arch. Hyg. 144, (196o) 1 - 6

25) Haenle, C.
Bakteriologische Studien über künstliches Selterswasser
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 4o, (19o6) 6o9 - 613

26) Heim, L.
Der Reinlichkeitszustand künstlicher und natürlicher Mineralwässer
Hyg. Rdsch. 15, (19o5) 169 - 174

27) Hochstetter, M.
Über Mikroorganismen in künstlichem Selterwasser nebst einigen vergleichen

den Untersuchungen über ihr Verhalten im Berliner Leitungswasser und in destilliertem Wasser
Arb. Gesd.amt 2, (1887) 1 - 38

28) Holthöfer, H.
Deutsches Lebensmittelrecht I, Verlag Haymann, Berlin (1961)

29) Jorns, G.
Die Typhuserkrankungen in Salza in dem Zeitraum 1901 - 1922
Zschr. Hyg. 102, (1924) 155 - 163

30) Kliewe, H. und Kindhäuser, J.
Über die keimtötende Kraft der Kohlensäure
Arch. Hyg. 110, (1933) 211 - 218

31) Knoche, B.
Bedeutung der Hygiene im Betrieb
Der Naturbrunnen 7, (1957) 130 -131

32) Koser, S.A. und Skinner, W.W.
Viability of the colon-typhoid group in carbonated water and carbonated beverages
J. Bact. 7, (1922) 111 - 121

33) Leone, C.
Untersuchungen über die Mikroorganismen des Trinkwassers und ihr Verhalten in kohlensauren Wässern
Arch. Hyg. 4, (1886) 168 - 182

34) Malapart-Neuville, R. de
Examen bactériologique des eaux naturelles
Ann. hyg. méd. lég. 17, (1887) 193 - 247

35) Möbius, H.
Problematischer Kunststoffmüll
Chem. Zeitung / Chem App. 92, 18, (1968) 662

36) Morgenroth, Dr.
Über den Bakteriengehalt von Mineralwässern
Hyg. Rdsch. 9, (1899) 176 - 18o

37) Mossel, D.A.A.
The suitability of bifidibacteria as part of a more extended bacterial association, indicating faecal contamination
Abstracts of the VIIth International Congress for Microbiology
Stockholm, (1958) 44o

38) Müller, G.
Der Vergleich der Gelatine und der Kiebogußplatte für die Koloniezahlbestimmung im Trinkwasser
Zentralbl. Bakt. Hyg. I Abt. Origin, B. 157 (1973) 376 - 386

39) Müller, G.
Salmonellen im Lebensraum einer Großstadt, Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie, Joh. Amb. Barth, Leipzig, Heft 19 (1965)

40) Müller, G.
Der Enterokokkennachweis bei bakteriol. Wasseruntersuchungen
Zbl. I Origin. Bd. 182, (1961) 318 - 323

41) Müller, G.
Handbuch des öffentl. Gesundheitswesens, Bd. III, Wasserversorgung,
Thieme Verlag, Stuttgart, (1969) 377

42) Müller, R.
Hygiene, Urban und Schwarzenberg
Berlin / München (1949)

43) Müller, W.
Über den Chemismus der deutschen Mineralquellen
Naturbrunnen 7, (1957) 162 - 168

44) Pappavassilou, J. u. Wegener, K.H.
Membranfiltermethode zum Nachweis sulfitreduzierender Clostridien
im Wasser
Zbl. Bakt. I, Abt. Orig. (1957)

45) Prévot, A.R. u. Thouvenot, H.
Etude bactériologique de la pollution d'eaux minérales
Ann. Inst. Past. 11, (1960) 39

46) Raymond, H.
Du pouvoir bactéricide des limonades
Presse méd. (1940) 686

47) Reinl, C.
Die gebräuchlichsten kohlensäurehaltigen Luxus- und Mineralwässer vom bakteriologischen Standpunkt aus betrachtet und der Einfluß der Füllungsweise auf den Keimgehalt derselben
Wien, med. Wschr. 38, (1888) 749 - 753 und 785 - 789

48) Rigler, G. von
Die Bakterienflora der natürlichen Mineralwässer
Hyg. Rdsch. 12, (1902) 473 - 485

49) Seeliger, H.P.R. u. Werner, H.
Zur Hygiene der Heilwässer, Mineralwässer und Limonaden in der Bundesrepublik
Zschr. Hyg. 147, (1961) 470 - 487

50) Steuer, W.
Über die Möglichkeit der Seuchenverbreitung durch Limonaden- und Sodawasserfabriken
Arch. Hyg. 128, (1942) 131 - 138

51) Zimmermann, W.
Zur Hygiene der Mineralwasserfabriken. I. Ergebnisse von Besichtigungen und Untersuchungen
Arch. Hyg. 142, (1958) 609 - 625

NACHTRAG ZUM SCHRIFTTUM

52) Gehring, A.
Über die hygienische Beschaffenheit von Kronenkork- und Hebelverschlüssen
Der Naturbrunnen 7, 4, (1957) 69 - 71

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. med. habil. W. M a a s s e n sowie Frau Prof. Dr. med. Gertrud M ü l l e r für die Überlassung des Themas zu danken. Ihre Ratschläge und Anregungen waren für mich bei der Durchführung dieser Arbeit eine wertvolle Unterstützung.

LEBENSLAUF

Am 9. April 1945 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Herbert S o e n k e und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Scharlach, in Braunau/Inn geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in Berlin besuchte ich die Herderschule und später die Carl-Friedrich-von-Siemensschule, an der ich 1965 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Zahnmedizin begann ich 1965 in Berlin, wo ich auch 1972 das Staatsexamen mit der Gesamtnote 'gut' bestanden habe. Gleich nach dem Staatsexamen begann ich meine Pflichtassistentenzeit bei dem Zahnarzt Dr. Karl S t r a c h e in Berlin-Lichtenrade. Die Assistenzzeit war im September 1973 beendet.